

## 上村修三郎「がん研究」奨励賞受賞講演

### 口腔癌に対するフッ化ピリミジン系経口抗癌剤 TS-1 を用いた治療戦略

原田 耕志

キーワード: TS-1, 口腔癌, 化学放射線療法

#### Therapeutic Strategy with Oral Fluoropyrimidine Anticancer Agent S-1 against Oral Cancer.

Koji HARADA

**Abstract:** A recent development of the novel anticancer agent S-1, has improved a therapeutic outcome for oral cancer, while conventional anticancer agents showed less anticancer effect against oral cancer. The present main drug in Japan is S-1, which is easily used for outpatients with a high efficacy rate and low toxicity, also shows better effect in combination with other anticancer drugs than S-1 alone. In addition, chemo-radiotherapy with S-1 exerts remarkable therapeutic effects.

In the present article, our trials demonstrated the effectiveness and safety of S-1 single-agent therapy and chemo-radiotherapy with S-1 for patients with oral cancer. Moreover, the mechanisms of the anticancer efficacy of S-1 alone and in combination with radiation were discussed based on various kinds of view points including anti-angiogenesis, suppression of survival signal, radiosensitization, and predictive factor. Furthermore, the therapeutic strategy with S-1 was reviewed by quoting the related references. It depends on the outcome of clinical trials whether the therapeutic strategy with S-1 will be incorporated in the global standard chemotherapy for oral cancer or not.

#### 要 旨

従来、口腔癌は抗癌剤低感受性の腫瘍として認識されてきたが、新規経口抗癌剤 TS-1 の導入により口腔癌の治療成績は改善しつつある。日本での口腔癌治療の中心的薬剤となり得る TS-1 は、外来使用が容易で、高い奏効率・寛容な有害事象を示し、また多剤併用により高い奏効率を示し、放射線との同時併用療法はさらに劇的な治療効果を発揮する。本稿では、われわれが行ってきた口腔癌に対する TS-1 単剤療法および TS-1 と放射線同時併用療法の有効性ならびに安全性についてその概略を供覧するとともに、TS-1 の抗腫瘍効果発現のメカニズムについて様々な視点から考察し、文献的考察を交えながら TS-1 を用いた治療戦略について検討した。今後分子標的薬剤との併用も含め、TS-1 が世界的な標準治療に

組み込まれるか否かは今後の臨床試験の結果が待たれるところである。

#### はじめに

本邦の癌の統計<sup>1)</sup>によると、2000年度の日本人の頭頸部癌死亡者は7,048人で、日本人の癌死亡者の2.3%を占め、癌種別では日本人男性において7番目に多い疾患である。また頭頸部癌の死亡率は1980年度にて男性3.5%、女性1.2%であったのに対して、2003年度にて男性8.0%、女性2.6%であり、近年、男女ともに死亡率が増加している。さらに Stage III, IV の割合は60%程度であり、進行癌が多いのが特徴と言える。なお頭頸部癌の約35-40%は口腔癌と考えられ、進行例も多い。従来口腔癌の根治的治療には手術、放射線治療あるいはこの両者の

併用療法が繁用されてきた。しかしながら、現在口腔癌治療においては生存率の向上が求められると同時に機能温存と審美性の保持が他の悪性腫瘍以上に要求されるため、拡大手術を避けるために進行例では抗癌剤を併用した多剤併用療法あるいは放射線を併用した化学放射線療法が主たる治療法となっている。ただし、これらの治療法のみでは飛躍的な治療成績の向上は望めない。このため、新規治療薬を組み入れた新しい治療法の開発に期待がかけられている。

### フッ化ピリミジン系抗癌剤の変遷

癌化学療法の歴史は、1943年に第二次世界大戦で用いられた毒ガスの誘導体である nitrogen-mustards から始まる。1946年 Goodman ら<sup>2)</sup> は nitrogen-mustards を白血病やホジキン病の治療薬として初めて使用した。続いて1956年 Hata ら<sup>3)</sup> が mitomycin C を、1957年 Heidelberger ら<sup>4)</sup> が 5-fluorouracil (5-FU) を発見し、その後多くの新規化合物が見出されて癌治療への応用が試みられてきたが、そのほとんどが抗癌剤として利用できるものではなかった。しかしながら、これらのなかで 5-FU は創薬から50年、様々な癌腫で化学療法の基本薬剤として使用されてきた。またこの間に 5-FU の作用機作が研究され、1967年 Giller ら<sup>5)</sup> により、5-FU のプロドラッグの第一号として、テガフル (FT) が合成され、これを用いて1976年 Fujii ら<sup>6)</sup> が経口抗癌剤 UFT を開発した。UFT は1984年に市販されて以来日本において消化器癌を中心に広く使用され、さらに1990年代に入ってから世界的にも臨床応用されるようになり、現在、世界60カ国で承認されている。

この UFT をしのぐ新規経口抗癌剤として、Shirasaka ら<sup>7)</sup> が TS-1 を開発した。TS-1 は、FT<sup>5)</sup>、ギメラシル (CDHP)<sup>8)</sup>、オテラシル (Oxo)<sup>9)</sup> が 1:0.4:1 で配合されている<sup>7,10)</sup>。CDHP は 5-FU 分解酵素ジヒドロピリミジン脱水素酵素 (DPD) の可逆的阻害剤、Oxo はリン酸化酵素の可逆的阻害剤である。TS-1 は、CDHP が含まれているために DPD による 5-FU の分解が阻害されるため、5-FU 単独に比較して長時間、高い 5-FU の血中濃度を保つことが可能とされている。さらに TS-1 に含有されている Oxo は、消化管に特異的に分布し同部での 5-FU のリン酸化を抑制するため、5-FU による消化管毒性を軽減することが可能とされている。すなわち、TS-1 は抗癌効果を高める一方で有害事象を軽減させるように工夫された薬剤であり、今や TS-1 は究極の 5-FU 系経口抗癌剤の一つとなっている (図1)。

なお TS-1 単剤での奏効率は、胃癌における第Ⅱ相臨床試験では44.6%と従来の薬剤にない治療効果を達成し、現在胃癌に対して中心的薬剤となっている<sup>11)</sup>。また頭頸部癌における TS-1 単剤での奏効率は、前期第Ⅱ相臨床試験では46.2%<sup>12)</sup>、後期第Ⅱ相臨床試験では28.8%<sup>13)</sup> と非常に高い有効性が報告された。これは、

5-FU単剤 (持続静注) の奏効率15%と比較して非常に高い奏効率である。また頭頸部癌化学療法に用いられている他の点滴静注による抗癌剤単剤での奏効率はそれぞれ cisplatin (CDDP) 26.0% (19/73)<sup>14)</sup>、carboplatin 20.0% (14/70)<sup>15)</sup>、nedaplatin 37.5% (9/24) および39.7% (29/73)<sup>16,17)</sup>、docetaxel 22.2% (14/63)<sup>18)</sup> であり、経口抗癌剤である TS-1 の有効性は非常に高いと考えられる。わが国では口腔癌の標準療法は未だ定まっていないとはいえ、口腔癌治療においては生存率の向上が求められると同時に機能温存と審美性の保持が他の悪性腫瘍以上に要求されるため進行例における化学療法の果たす役割は極めて高く、経口抗癌剤である TS-1 は簡便で効果が高い点から、今後口腔癌化学療法の中心的薬剤の一つとなると考えられる。

### 口腔癌に対する TS-1 単剤療法の有効性

当教室では、高齢者や手術拒否の口腔癌患者に対して2001年6月より TS-1 単剤による化学療法を開始したところ、非常に高い治療効果 [25例中、Complete Remission (CR) 6例、Partial Response (PR) 4例; 奏効率40.0%] を確認した。そこで、2002年10月から2004年8月まで中四国口腔癌研究会の多施設共同研究として、口腔癌に対する TS-1 の第Ⅱ相臨床試験を施行し、安全性および有効性の検討を行った。その結果、41例中CR 9例、PR 8例、奏効率41.5%が得られ、口腔癌に対する TS-1 の有効性は、胃癌に対する有効性と同等であることが示唆された (表1)。また TS-1 は口腔癌治療において妥当な有害事象を示すことも示唆された (表2)。有効例の中には、顎骨浸潤をきたした進展例が劇的に治癒するケースが見られた (図2)。

### 口腔癌に対する TS-1 と放射線同時併用療法の有効性

当教室では、1990年より進行例や再発例さらに手術拒否の頭頸部癌患者に対して UFT と放射線の併用療法を施行し、外科的拡大手術を行うことなく比較的良好な治療成績を報告してきた<sup>19)</sup>。ただし、Stage IV の進行例に対しては、腫瘍の完全消失を認めたケースは皆無であった。そこで2003年7月より TS-1 と放射線の併用療法を開始したところ、劇的な治療効果 [22例中、CR 11例、Partial PR 10例; 奏効率95.5%] が確認され、さらに Stage IV 9例のうち6例が腫瘍の完全消失に至った。そこで、2004年10月より口腔癌に対する TS-1 と放射線同時併用療法の臨床第Ⅰ相試験を開始し、有効性 (表3) および安全性 (表4) を検討し、投与制限毒性、TS-1 の最大耐用量および推奨用量を決定した上で<sup>20)</sup>、現在、中四国口腔癌研究会の多施設共同研究として臨床第Ⅱ相試験を実施中でありその結果が待たれるところである。なお有効例の中には、頸部リンパ節転移を伴う Stage IV の進展例が劇的に治癒するケースが見られた (図3)。

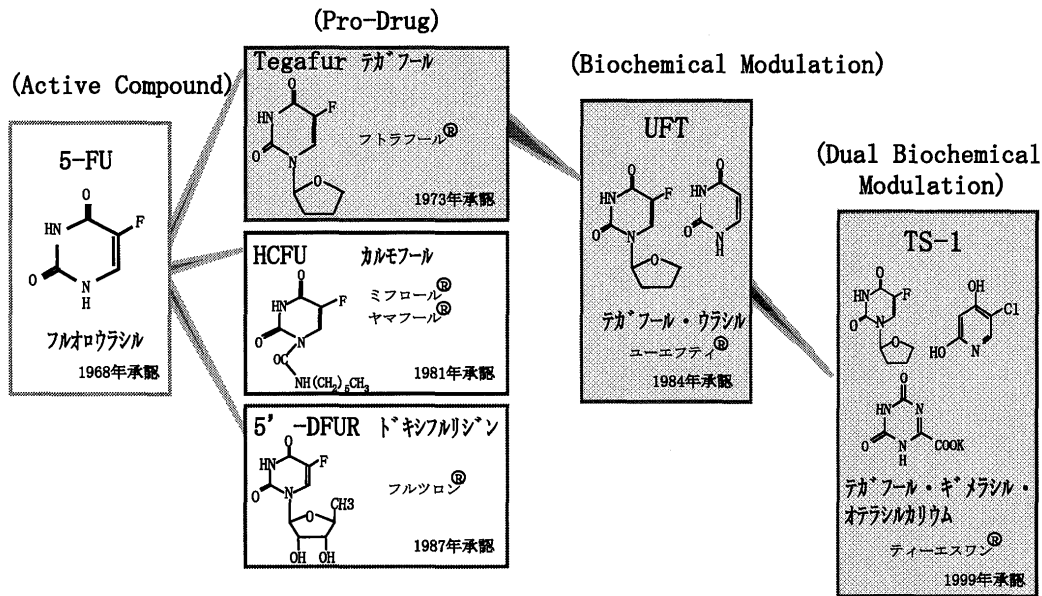


図1 フッ化ピリミジン系抗癌剤の変遷

フッ化ピリミジン製剤は、消化器癌を中心に広く使用されてきたが、5-FU は、その分解酵素である DPD により分解され活性を失ってしまうため、DPD を競合阻害するウラシルを配合した UFT が開発され、さらにウラシルよりも200倍強い DPD 阻害活性を有する CDHP を配合した TS-1 が開発された。また、これまでに UFT, TS-1 の他、ドキシフルリジン (フルツロン®), カルモフル (ミフロール®, ヤマフル®) などのフッ化ピリミジン系経口抗癌剤が治療薬として承認されている。今後、癌化学療法の分野においてますます普及し、また続々と新規薬剤が開発され臨床応用が目指されるであろう。

表1 口腔癌に対する TS-1 単剤療法による治療効果

病変部	CR	PR	SD	PD	NE	奏効率 (%)
Overall	9	8	17	1	6	41.5
歯肉	4	3	5	1	1	50.0
舌	3	2	6	0	1	41.7
口蓋	2	0	1	0	1	50.0
口底	0	0	3	0	1	0
上顎洞	0	2	2	0	0	50.0
その他	0	1	0	0	2	33.3

CR = complete response (著効); PR = partial response (有効); SD = stable disease (安定); PD = progressive disease (増悪); NE = not evaluable (評価不能).

奏効率 = CR+PR

## 口腔癌に対する TS-1 の抗腫瘍効果発現のメカニズム

### ①時間依存的効果

TS-1 の抗腫瘍効果発現のメカニズムは 5-FU と基本的には同じであり、時間依存性に有効性を示すと考えられている。すなわち CDHP が配合されたことにより肝臓や腫瘍内で DPD による 5-FU の分解が抑制され、体内の 5-FU 濃度がより高濃度にしかも長時間効果的に持続して、結果的に強い抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。5-FU の抗腫瘍効果発現のメカニズム解明については、1964年 Skipper ら<sup>21)</sup> が 5-FU の代謝経路を明らかにした。すなわち 5-FU は uracil の 5 位にハロゲンの fluorine (F) を置換したもので、生体内では

表2 口腔癌に対する TS-1 単剤療法に関連した有害事象

有害事象	Grade*				Grade 1-4 (%)	Grade 3-4 (%)
	1	2	3	4		
血液毒性						
白血球減少	12	9	0	0	51.2	0
好中球減少	5	11	1	0	41.5	2.4
ヘモグロビン減少	15	8	2	0	61.0	4.9
血小板減少	12	0	1	0	31.7	2.4
非血液毒性						
悪心	1	1	1	0	7.3	2.4
嘔吐	1	1	1	0	7.3	2.4
食欲不振	7	5	2	0	34.1	4.9
口内炎	7	8	1	0	39.0	2.4
下痢	4	1	1	0	14.6	2.4
ビリルビン上昇	10	3	0	0	31.7	0
AST上昇	5	0	0	0	12.2	0
ALT上昇	5	0	0	0	12.2	0
倦怠感	8	1	0	0	22.0	0
発熱	2	0	0	0	2.4	0
発疹	2	2	0	0	9.8	0
色素沈着	3	0	0	0	7.3	0

治療期間中最も著しい有害事象を選択した。

AST = aspartate aminotransferase; ALT = alanine aminotransferase.

\*NCI Common Toxicity Criteria, version 2.0.

uracil の場合と同じ酵素により同化、代謝され、5-FU → (FUrd) → FUMP → FUDP → FdUDP を経て FdUMP になり、thymidylate synthase (TS) とともに三者共有結合体 (5,10-CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub>-FdUMP-TS) を形成し DNA 合成への経路

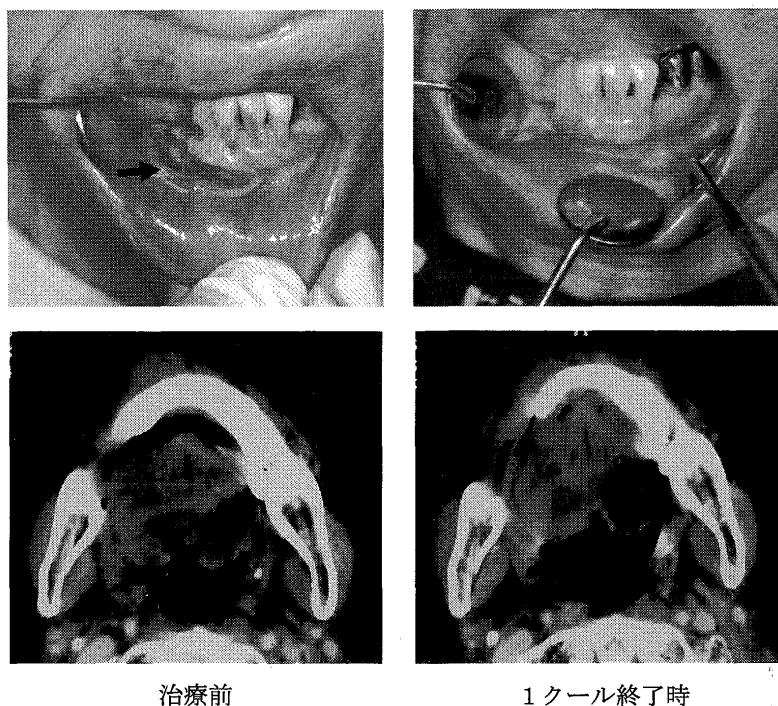


図2 TS-1 単剤療法による有効例

76歳女性, 5-1 | 部 (矢印) に深い潰瘍を伴う T2N1M0, Stage III の下顎歯肉癌に対して, TS-1 を投与したところ, 1クール終了時には肉眼的にも CT 画像からも腫瘍はほとんど消失しており, さらに2クール終了時の生検では腫瘍細胞を認めず, 治療開始後44ヶ月目まで再発兆候を認めていない。

表3 口腔癌に対する TS-1 と放射線同時併用療法の臨床第 I 試験の治療効果

	CR	PR	SD	PD	NE	奏効率 (%)
Level 1	4	1	1	0	0	83.3
Level 2	2	0	0	0	0	100.0
Overall 1	6	1	1	0	0	87.5

Level 1 はTS-1 65 mg/m<sup>2</sup>にて投与し, Level 2 はTS-1 80 mg/m<sup>2</sup>にて投与され, Level 2は2例とも投与制限毒性(DLT)に至った。

を阻害することにより, 殺細胞活性を発揮すると考えられている。また, 5-FU → (FUrd) → FUMP → FUDP → FUTP → (F) RNA になり RNA の代謝異常として認識され殺細胞活性を呈すると考えられている (図4)。5-FU が RNA の機能障害を引き起こすには高濃度 (*in vitro* で1.3-13 μg/ml) が必要と考えられている<sup>22)</sup>。これに対して, DNA の合成阻害は低濃度 (0.065-0.13 μg/ml) で発揮されると考えられている<sup>23)</sup>。すなわち bolus 投与においては一時的に 5-FU の血中濃度が上昇し RNA 機能障害による抗腫瘍効果が発揮されるのに対して, 低濃度 5-FU の持続点滴静注や TS-1 投与においては主として DNA 合成阻害による抗腫瘍効果が発揮されると考えられる<sup>24)</sup>。近年, 5-FU は抗腫瘍効果において, bolus 投与に比較して4週間以上にわたる持続点滴静注法が優れて

表4 口腔癌に対する TS-1 と放射線同時併用療法の臨床第 I 試験での有害事象

有害事象	(Level 1)					(Level 2)				
	Grade <sup>a</sup>					Grade <sup>a</sup>				
	1	2	3	4	Grade 3-4 (%)	1	2	3	4	Grade 3-4 (%)
(血液毒性)										
白血球減少	0	1	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
好中球減少	0	1	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
ヘモグロビン減少	1	1	0	0	0.0	0	1	0	0	0.0
血小板減少	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
(非血液毒性)										
口内炎	0	5	①	0	16.7	0	2	0	0	0.0
食欲不振	2	2	1	0	16.7	0	1	0	0	0.0
悪心	1	1	1	0	16.7	0	1	0	0	0.0
嘔吐	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
胸やけ/消化不良	0	0	0	0	0.0	0	0	①	0	50.0
下痢	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
発疹	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
色素沈着	2	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
全身倦怠感	0	1	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
AST/ALT上昇	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0.0
ビリルビン上昇	0	0	0	0	0.0	0	0	①	0	50.0

丸印の口内炎、胸やけ/消化不良、ビリルビン上昇は投与制限毒性(DLT)と判断された。<sup>a</sup>NCI Common Toxicity Criteria, version 2.0.

いると報告されている<sup>25)</sup>。以降, 様々の検討がなされた結果, 上述の如く 5-FU は投与量に依存するのではなく,

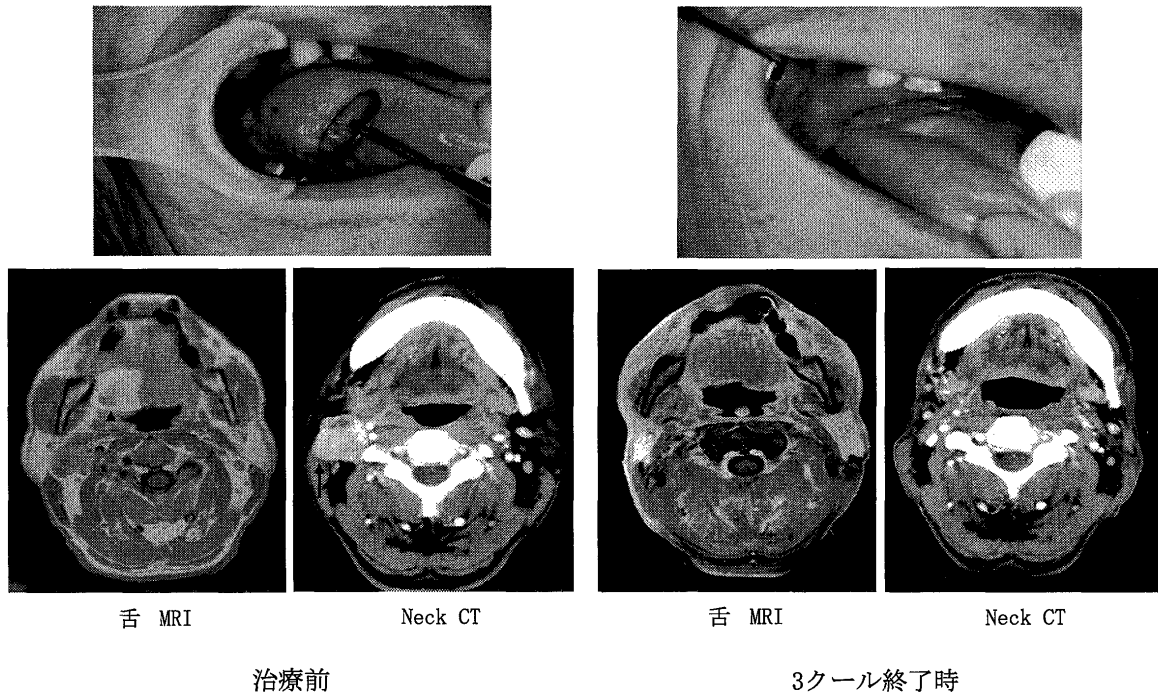


図3 TS-1 と放射線同時併用療法による有効例  
68歳男性、右側頸部リンパ節転移巣（矢印）を伴う右側舌縁部から舌根部原発（矢頭）の T3N2bM0, Stage IVA の舌癌に対して、TS-1と放射線同時併用療法を施行したところ、3クール終了時の生検では腫瘍細胞を認めず、さらにCTにて右側頸部リンパ節転移巣の消失が見られた。治療開始後27ヶ月まで、再発兆候を認めていない。

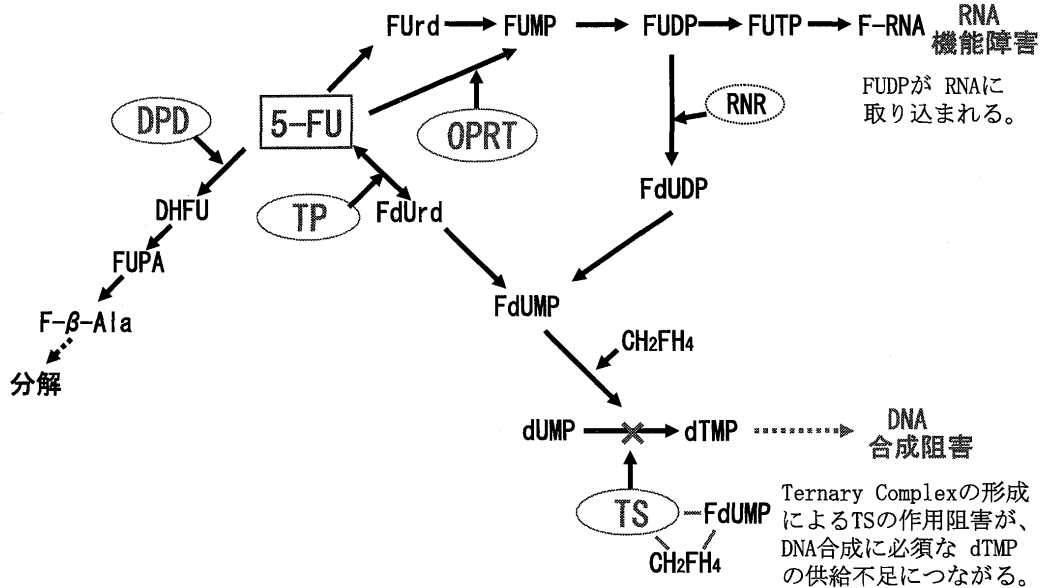


図4 5-FU 代謝経路と抗腫瘍効果発現のメカニズム  
5-FU の代謝経路は OPRT から始まるリン酸化の過程で FUMP, FUDP を経て FUTP となり、この FUTP が RNA に取り込まれて RNA 機能障害を引き起こす系と、FUDP が FdUDP を経て FdUMP に変換され、FdUMP が TS と CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub> と三者共有結合体を形成し DNA 合成を阻害する系があり、一方肝臓で DPD により分解される。また 5-FU は TP によりリン酸化され FdUrd となるが、可逆的にも働き、さらに TP は血管新生促進にも関与する。OPRT, orotic acid phosphoribosyl transferase; FUMP, 5-fluorouridine 5'-monophosphate; FUDP, 5-fluorouridine 5'-diphosphate; FUTP, 5-fluorouridine 5'-triphosphate; FdUDP, 5-fluoro-2'-deoxyuridine 5'-diphosphate; FdUMP, 5-fluoro-2'-deoxyuridine 5'-monophosphate; TS, thymidylate synthase; CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub>, 5,10-methylenetetrahydrofolate; DPD, dihydropyrimidine dehydrogenase; TP, thymidine phosphorylase; FdUrd, 5-fluoro-2'-deoxyuridine.

接触時間によって効果が決まる時間依存性の薬剤であることが明らかにされた<sup>26-29)</sup>。すなわち、5-FUが高濃度でも短時間の接触では効果が極めて弱く、たとえ低濃度でも長時間接触することにより高い抗腫瘍効果が得られることから、連日投与可能なTS-1は、血液内および腫瘍内で一定の5-FU濃度を長時間持続しやすく、高い抗腫瘍効果の発現につながっていると考えられる。

## ②血管新生抑制効果

腫瘍細胞が活発な増殖を継続して一定サイズ以上の腫瘍塊を形成するには、栄養成分ならびに酸素の供給と代謝老廃物の排泄のために血管の新生が必要である、すなわち、固形腫瘍の増殖は血管新生に依存するという考えが1976年Folkmanにより提唱され、これまでに実験的な証明がなされてきた<sup>30)</sup>。また、形成された新生血管は基底膜が未熟で透過性が高く、脆弱であるといった特性があり、腫瘍血管数の増加は腫瘍細胞の血管内移行を容易にし、転移の増加につながると考えられている<sup>31)</sup>。すなわち口腔癌治療においても腫瘍血管の新生を抑制できれば、腫瘍の栄養血管を阻害し、いわゆる兵糧責めを期待できるとともに、転移の阻止にもつながるものと考えられる。

最近われわれは、TS-1が転写因子Nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B)活性を抑制することにより、血管新生因子であるvascular endothelial growth factor (VEGF)およびfibroblast growth factor-2 (FGF-2)の発現を抑制し、血管新生抑制効果を発現することを明らかにした<sup>32)</sup>。腫瘍血管新生の促進因子はVEGFやFGF-2以外にも多数同定されているが、その中でもVEGFやFGF-2は血管内皮細胞の増殖や分化、遊走などに広く関与し、腫瘍血管新生に直接的に関与することが証明されている<sup>33,34)</sup>。近年、血管新生阻害剤の研究・開発が進み、現在アバスタチン(抗VEGFモノクローナル抗体)など、非常に高価な分子標的薬剤の臨床応用が開始されているが、それらに比較すると安価とも考えられるTS-1が強い血管新生抑制効果を示すことは大変興味深いと思われる。

また近年、メトロノミッケモテラピーと呼ばれる抗癌剤の投与方法が注目されている。これは最大耐用量(MTD)よりも低用量の抗癌剤を長時間持続頻回投与するもので、その治療法は絶え間なく規則正しいリズムを刻むメトロノームに例えることができる。すなわち、通常の癌化学療法では休薬期間を設けながらMTDの投与が繰り返されるのに対して、メトロノミッケモテラピーでは休薬期間を設けずに継続投与する方法である<sup>35)</sup>(図5)。なおメトロノミッケモテラピーは血管新生阻害をターゲットとした治療法として、2000年KerbelおよびFolkmanらによりそれぞれほぼ同時に報告され、Kerbel-Folkman療法とも呼ばれている<sup>35-37)</sup>。なおメトロノミッケモテラピーの理論的根拠としては、分裂・増殖している血管内皮細胞はほとんどの化学療法剤に感受

性があること、また宿主側の細胞である血管内皮細胞は薬剤耐性を獲得しづらいことから、腫瘍細胞に対して耐性である薬剤で治療している際にも血管内皮細胞に対する薬剤感受性は持続する可能性があることが挙げられている<sup>38)</sup>。すなわち、通常の化学療法がMTDを月1回(3週間隔)で投与するのに対して、メトロノミッケモテラピーは、より低い用量を1週間隔あるいは連日投与し、腫瘍細胞だけでなく血管内皮新生抑制をも狙った治療法である。そして腫瘍細胞に対して耐性を示し直接的な抗腫瘍効果が減弱してしまった状況においても、腫瘍の栄養血管を阻害し、いわゆる兵糧責めを期待できるものと考えられる。特にKerbelらは、メトロノミッケモテラピーに合致する化学療法剤として連日投与可能な経口剤シクロフォスファミドやUFTを想定している。

なお腫瘍血管新生の発現には、血管新生促進因子の発現増強と血管新生抑制因子の発現減弱が必要とされている。上述した如く、腫瘍血管新生の促進因子としては、VEGFやFGF-2が重要視されている。一方、腫瘍血管新生の抑制因子としては、細胞外マトリクスファミリーの糖蛋白であるThrombospondin-1 (TSP-1)が注目されており、これは血管内皮細胞に発現するCD36受容体と結合することにより、内皮細胞の増殖を抑制しアポトーシスを誘導することが報告されている<sup>39)</sup>。すなわち、腫瘍血管新生の発現においては、VEGF、FGF-2の発現増強だけでなく、TSP-1の発現減弱が重要と考えられる。そこで、われわれはヒト口腔癌細胞株をヌードマウス背部皮下へ移植して形成された腫瘍に対してTS-1を連日経口投与し、TS-1のTSP-1発現への影響を経時的に検索した結果、TS-1はTSP-1の発現増強を介して血管新生抑制効果を発現することを明らかにした<sup>40)</sup>。すなわち口腔癌の治療においては、TS-1は、メトロノミッケモテラピーの理論に合致する薬剤と考えられた。口腔癌は血管新生能の強い癌であり<sup>41)</sup>、治療効果を向上させるためには、血管新生を抑制することは非常に有用であり、この点においてTS-1は大きな役割を演じているものと考えられる。

## ③アポトーシスの増強と生存シグナルの抑制

癌細胞の生死にはアポトーシスシグナルと生存シグナルのバランスにより制御されており、効果的な殺細胞効果を考えた場合、アポトーシスが促進されるだけでなく生存シグナルが抑制されることも非常に重要となる。従来の癌治療は抗腫瘍効果の増強を目指す上で、アポトーシスの増強への努力がなされ、生存シグナルの抑制への考慮がなされていなかったように思われる。

アポトーシスの誘導には二つの大きな経路があり、一つはレセプターを介した経路、もう一つはミトコンドリアを介する経路である。両方の経路でCaspaseは重要な役割を担っている。Caspase-8はデスレセプターから、Caspase-9はミトコンドリアからのチトクロームCの放

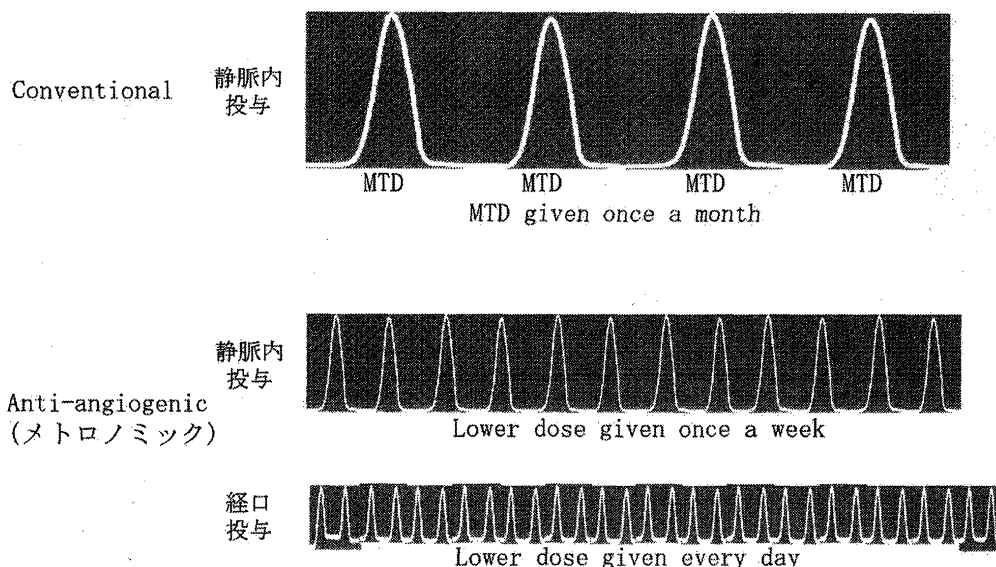


図5 癌化学療法のスケジュール

通常の化学療法がMTDを月1回程度で投与するのに対して、メトロノミックケモセラピーは、MTDより低い用量を1週間隔あるいは連日投与する方法である。

出をうけ、そのシグナルを下流にあるCaspase-3に伝えアポトーシスを誘導している<sup>42)</sup>。また、われわれの検討では5-FUは口腔癌細胞においてCaspase-9活性だけでなくCaspase-8活性の上昇をも引き起こし、さらにCaspase-3活性を上昇させることによりアポトーシスを誘導していると考えている<sup>43,44)</sup>。

アポトーシス制御機構の一つとしてキナーゼによる制御機構があり、Akt/PKBはPI3 kinaseの下流で活性化して細胞の生存を促進するセリン/スレオニンキナーゼ<sup>45,46)</sup>であり、Akt/PKBはBadの抑制などを介してミトコンドリアから細胞質へのチトクロームCの放出を抑制し、さらにチトクロームC放出以下のCaspaseの活性化を抑制するという二つの段階でCaspaseの活性化を制御していることが明らかにされている<sup>47)</sup>。そこでわれわれは、生存シグナルの中心的役割をなすAkt/PKBの活性化型であるp-Aktについて検索を行ったところ、TS-1はp-Aktの発現レベルを低下させることが確認された<sup>48)</sup>。すなわち、TS-1はアポトーシスシグナルを促進しアポトーシスを増強するだけでなく、生存シグナルであるp-Aktの発現を低下させることにより、効果的に抗腫瘍効果を増強している可能性が考えられる。

#### ④放射線増感効果

口腔癌に対するTS-1と放射線同時併用療法の治療成績からも、TS-1には優れた放射線増感効果があるものと推察される。5-FUの放射線増感効果は古くから知られており<sup>49)</sup>、このため5-FUと放射線の併用療法も長く臨床応用されている<sup>50-52)</sup>。TS-1は、その成分としてFTを持ち、FTが5-FUに変換されるため、TS-1も5-FUと

同様に放射線増感剤として働いていると考えられる。また放射線照射を受けた細胞は5-FUの分解に遅れが生じているとの報告もみられる<sup>53)</sup>。TS-1にはCDHPが含有されており、5-FUの分解が遅れるよう工夫されている点から、放射線照射によりさらにその分解が抑制される可能性も考えられる。さらにTS-1の場合、含有成分であるCDHPに放射線増感効果が存在する可能性が考えられる。CDHPはピリミジン代謝酵素DPDの阻害剤であり、DPDは5-FUの分解だけに働くのではなく、ピリミジン構造の核酸代謝を担う酵素であるため、DPDの阻害は非特異的核酸代謝障害を来す可能性がある。すなわちCDHPの存在によって、放射線照射による核酸破壊がより効率的に起こり、殺細胞効果を高める可能性が考えられる。

放射線照射による細胞死には、照射によって無限増殖能を失い、分裂を繰り返すうちに死に至る分裂死(mitotic death)と、照射後分裂を介することなく直接に死に至る間期死(interphase death)があり、分裂死は小線量でおこると考えられており、細胞の放射線感受性を定量化する方法として、分裂死を指標として線量効果関係を求めるclonogenic assayが多用されている。すなわちこれは比較的容易に放射線増感効果を把握できる方法であり、われわれはclonogenic assayにより口腔癌細胞に対するTS-1の放射線増感効果を明らかにした<sup>54)</sup>。同様にCDHPの放射線増感効果を検討したところ、CDHP処理によりコロニー形成能の低下が認められ、TS-1の成分であるCDHPにも放射線増感効果が存在する可能性が示唆された。TS-1におけるCDHP含有の意義は予想以上に大きなものかも知れない。



口腔癌細胞に対する TS-1 と放射線照射との併用処理に際して、放射線照射の前に TS-1 を処理すると、放射線照射の後に TS-1 を処理するよりも細胞増殖抑制効果が有意に高かった。また、放射線照射の前に TS-1 処理を行えば、放射線照射後に TS-1 処理を行うよりコロニー形成能の低下が見られた。担癌ヌードマウスを用いた検討においても、TS-1 あるいは放射線単独療法に比較して、両者の併用療法にて有意な抗腫瘍効果が認められ、TS-1 の放射線増感効果が見られた。また放射線の前に TS-1 を投与することにより、放射線後に TS-1 を投与するよりも有意にアポトーシスを誘導し、さらに抗腫瘍効果も有意に高かった<sup>54, 55)</sup>。すなわち TS-1 と放射線を併用する治療において、TS-1 が最高血中濃度 (Cmax) に達するのに要する時間を考慮し、その時間だけ早く TS-1 を投与する方法が最も併用効果が高いと考えられる。これは、TS-1 と放射線の同時併用療法の有効性を示唆したものと考えられる。つまり、放射線治療と抗癌剤との併用方式には、放射線治療の前 (neo-adjuvant therapy, induction therapy)、あるいは後 (adjuvant therapy) に抗癌剤を投与する継時療法、放射線治療と抗癌剤を同時に投与する同時療法 (concurrent therapy)、放射線治療と抗癌剤を交互に投与する交替療法 (alternative therapy) があり、それぞれ一長一短があるものの、理論的に放射線照射部位の抗腫瘍効果が最も高くなる concurrent therapy が TS-1 と放射線の併用療法に最も適していると考えられる。

#### 口腔癌における TS-1 の効果予測因子

5-FU 系抗癌剤の効果予測因子として標的酵素 TS、分解酵素 DPD、リン酸化酵素 thymidine phosphorylase (TP)、orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) が注目されている。先にも少し触れたが、5-FU の代謝経路は OPRT から始まるリン酸化の過程で、F-RNA となり RNA 機能障害を引き起こす系と、FdUMP が TS と  $\text{CH}_2\text{FH}_4$  と三者共有結合体を形成し DNA 合成を阻害する系があり、低濃度 5-FU の持続点滴静注や TS-1 投与の場合は、主として後者により殺細胞効果が発現されると考えられている。つまり Ternary Complex の形成によるピリミジン合成の律速酵素 TS の作用阻害が、DNA 合成に必須な dTMP の供給不足につながり DNA 合成阻害が生じるわけであり、TS 発現が少ないほど TS が阻害されやすく 5-FU が効果的に働くと考えられている。これまでも 5-FU 系剤投与後の摘出腫瘍の TS 阻害に関する研究が多数行われてきたが、TS 阻害率が抗腫瘍効果と相関するとの基礎的・臨床的結果が報告されているが<sup>56-59)</sup>、その一方で TS 阻害が必ずしも臨床効果に結びつかないとの報告もある<sup>60-62)</sup>。また最近、TS の発現そのものが癌の悪性度あるいは予後、更には 5-FU による化学療法の効果と相関するとの結果が消化器癌を中心に相次いで報告されているが<sup>63)</sup>、相反する結果も報告されており<sup>64)</sup>、更

なる検討が必要とされている。

また 5-FU の不活化因子として 5-FU 分解系の律速酵素 DPD が知られている。Beck らは、ヒト培養癌細胞中の DPD 活性が 5-FU に対する感受性と相関することを報告し<sup>65)</sup>、また Etienne らは、頭頸部癌患者の腫瘍内 DPD 活性が 5-FU 療法の効果予測因子となることを報告した<sup>66)</sup>。これらの研究から、DPD 発現が少ないほど 5-FU が DPD により分解されないで、5-FU が有効に働くと考えられ、5-FU の効果予測因子としての腫瘍内 DPD の意義が注目されている。ただし、TS-1 には DPD 阻害剤 CDHP がその成分として含有されており、DPD 活性が高い腫瘍においても 5-FU は効果を発現できるという Biochemical modulation の理論に基づいて TS-1 は開発されたものであり、さらに検討を行うべきである。

TP はピリミジンヌクレオチド代謝に関与する酵素であるが、5-FU は TP によりリン酸化され FdUrd となるが、可逆的にも働き、TP の発現の高さが働き必ずしも 5-FU の効果増強にはつながらないと考えられている。ただし、TP 酵素活性はヒトの肝臓・消化管のみならず癌患者で高値を示すこと、上述した FdUrd だけでなく 5'-DFUR、カペシタビン、FT の代謝にも関与することより、腫瘍の増殖とその抑制に重要な役割を演じていると考えられてきた。近年、TP が血管新生因子である血小板由来血管内皮細胞増殖因子 (PD-ECGF) と同一であることが明らかになり、TP は血管新生活性を有し腫瘍血管増生への関与が注目されている。更なる検討が必要とされるものの、TP 発現の高さは必ずしも 5-FU の効果を増強せず、むしろ TP 発現が少ないほど腫瘍血管新生は抑制されることにより腫瘍の進展は促進されず、5-FU が効果を発揮しやすいのでなかろうかと考えている。

OPRT は 5-FU のリン酸化酵素であり、細胞内で 5-FU をリン酸化し、以降、RNA 機能障害や DNA 阻害を生じると考えられており、OPRT 発現が高いほど 5-FU 感受性が高く、5-FU が効果的に働くと考えられている<sup>67)</sup>。

すなわち基本的には 5-FU 系抗癌剤による化学療法は、TS、DPD、TP の発現が低く、OPRT の発現が高い症例に対して効果的であると考えられているが (図 4)、口腔癌に対しては未だ一定の見解が得られていない。そこでわれわれは、TS-1 単剤により治療を行った口腔癌 25 例と、TS-1 と放射線同時併用療法を行った 15 例の治療前、生検時のパラフィン包埋標本を用いて TS、DPD、TP、OPRT の mRNA 発現量を Danenberg Tumor Profile 法 (Laser capture microdissection + Real time RT-PCR)<sup>68)</sup> にて検索した結果、TS-1 単剤では TS、DPD、TP の発現が低く OPRT の発現が高いほど治療効果は高い傾向にあり、TS mRNA 発現の低値と治療効果とは統計学的に有意差を認めた ( $p < 0.0005$ ; Mann Whitney U test)<sup>69)</sup>。一方、TS-1 と放射線との併用療法では同様に TS mRNA 発現の低値と治療効果とは統計学的に有意差 ( $p < 0.0005$ ; Mann Whitney U test) を認めたが、TS や DPD が高値を



示す症例においても治療効果が見られた。以上の結果から TS-1 を用いた口腔癌治療において、TS mRNA 発現が低いほどその治療効果が高く、TS mRNA レベルの検索が TS-1 による化学療法の選択に非常に有用である可能性が示唆されるとともに、TS-1 と放射線同時併用療法は、TS または DPD mRNA レベルの高い症例においても有用である可能性が示唆された。少ない口腔癌症例での検索のため、まだ検討すべき点があるが TS、DPD、TP、OPRT それぞれの発現が異なる腫瘍細胞においては、TS-1 の抗腫瘍効果の発現に差異が生じることは確かである。すなわち、TS 発現が低ければ TS-1 単剤でも抗腫瘍効果が期待されるが、TS、DPD、TP 発現が低く、OPRT 発現が高い腫瘍においては TS-1 単剤療法で劇的な治療効果が得られるものと予測される。また TS 発現のみが低く、DPD、TP 発現が高く、OPRT 発現が低い腫瘍は、TS-1 と放射線同時併用療法が有効な手段になると考えられる。なお TS 発現が高い腫瘍に対しては、5-FU 系抗癌剤を用いない別の治療法が望ましいのかも知れない。

#### 口腔癌に対する TS-1 を用いた治療戦略と今後の展望

口腔癌の標準療法はいまだ定まっていないとはいえ、初期病変や非進行例 (Stage I, II) であれば、手術療法を第一選択にすべきものと考えられる。ただし、生検の結果病理学的に組織学的悪性度が高い場合 (山本・小浜分類 4D 型など) や、いわゆる Late T2 (腫瘍径が 3 cm 以上 4 cm 未満) の患者で職業的 (英会話講師など) に機能温存が強く要求される場合などは、外科的切除を避ける方が望ましいと考えられる。ましてや進行例においては、機能温存と審美性の保持への点から、多剤併用療法や化学放射線療法が選択されるケースが増加すると考えられる。やはり口腔癌治療においては、進行癌における生存率の向上はもちろんのこと、すべての Stage における後遺症の軽減が重要視されるべきである。これを実現するためには化学療法は非常に重要であり、これまでに新規抗癌剤の開発や投与方法の工夫により、有害事象を抑え抗腫瘍効果を高める努力がなされてきた。TS-1 の開発や TS-1 を組み入れた多剤併用療法や化学放射線療法は、その成果であると言える。頭頸部癌に対しては、TS-1 と CDDP 併用療法の多施設共同第 I / II 相試験で、34 例中 CR 7 例、PR 16 例、奏効率 67.6% が報告されている<sup>70)</sup>。また手術不可能な再発転移頭頸部癌に対する TS-1 と carboplatin 併用外来化学療法の第 II 相試験で、22 例中 CR 5 例、PR 4 例、奏効率 40.9% が報告されている<sup>71)</sup>。さらに進行頭頸部癌に対する TS-1 と docetaxel 併用化学療法の第 I 相試験で、6 例中 CR 0 例、PR 3 例、奏効率 50.0% が報告されている<sup>72)</sup>。なお頭頸部癌に対する TS-1 + CDDP と放射線照射同時併用療法の第 I 相試験では、16 例中 CR 13 例、PR 3 例、奏効率 100.0%、CR 率 81.3% と劇的な治療効果が報告されてい

る<sup>73)</sup>。このように根治切除不能な頭頸部癌に対する、より効果の高い治療法の開発を目指して TS-1 を組み入れた臨床試験が多数行われてきている。また口腔癌においては、大腸癌における bevacizumab, cetuximab のような明らかに生存期間の延長に寄与する分子標的薬剤は現時点ではないものの、近い将来有用な分子標的薬剤が出現してくる可能性は十分にある。その際には、大腸癌における FOLFOX 療法のように口腔癌においても TS-1 や TS-1 を含む併用療法への効果の上乗せが期待されると考えられる。つまりは、有望な新規薬剤の出現に伴いその度ごとに臨床試験が必要となるわけであり、これまでのように施設ごとに治療法が異なりエビデンスの乏しい治療が汎用されている現状からの脱出は非常に重要と考えられる。すなわち多施設共同試験こそが、より適切な治療法の確立につながるものと思われる。

当教室での TS-1 を用いた治療経験からは、TS-1 投与だけで腫瘍が消失し、完治したと考えられる 3 症例がある。それらは少なくとも 5 年以上再発なく経過している。なお上述した TS-1 の効果予測因子は TS、DPD、TP 発現が低く、OPRT 発現が高い腫瘍であり、TS-1 投与開始 1 週間で明らかに腫瘍の縮小が確認された症例であった。すなわち、口腔癌化学療法において有用な効果予測因子が存在すれば、それぞれの症例に応じて、TS-1 単独にて治療が期待されるケース、多剤併用療法が望ましいケース、さらに放射線との併用療法を行うべきケースなどが予測でき、癌化学療法において重要視されているオーダーメイド治療へつながる可能性も考えられる。これは治療効果の向上はもとより、有害事象の軽減、入院治療期間の短縮など医療費の節約にもつながる可能性があり、何より手術療法による機能・審美障害が、最大限に避けられるものと考えられる。すでにわれわれは TS-1 に高い感受性を示す腫瘍から耐性を獲得した腫瘍を作製し、DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現の差を網羅的に解析することにより、TS-1 の新たな効果規定因子の同定を試みているところである。

それぞれの施設における環境・状況によると思われるが、生検の結果口腔癌であることが確定された場合に、組織型や全身状態を考慮しながら転移の有無を検索し、サルベージの手段も考えた上で治療方針を決定することになるであろう。しかしながら治療方針の決定や手術待ち、抗癌剤感受性試験の結果待ちなどのためにも 1 週間程度の日数を要するのであれば、生検直後から癌細胞が播種し局所浸潤や転移の危険性が高まっていることを考慮して、できるだけ早期から TS-1 投与を開始することは非常に有用であると考えている。口腔癌は、連日肉眼で病変が容易に確認できるという部位的な特徴を有しているので、たとえ 1 週間程度の TS-1 投与であっても 3 ~ 4 割の患者において抗腫瘍効果が確認できると予想される。その TS-1 の効果に応じて、著効しているようであれば、TS-1 単剤による外来化学療法は一つ

の選択肢になるであろうし、効果は見られているものの消失しそうな勢いでなければ、CDDPあるいはdocetaxelとの併用療法が選択肢の一つになるであろう。これはneo-adjuvant chemotherapyとなり得る可能性も考えられる。さらに強力な治療効果が必要と考えられた際には、やはり放射線との同時併用が選択されるべきであろう。それでも効果が得られないケースにはTS-1 + CDDPと放射線照射同時併用療法が切り札になるのかも知れない(図6)。これらTS-1を用いた治療戦略を行う上で注意すべき有害事象には、好中球減少などの骨髄抑制があるが、定期的な血液検査モニタリングを行うなど十分な管理体制で対応が可能である。また口内炎が高頻度で生じるが、1週間程度の治療の中断にて改善が認められ、ほとんどの場合治療が再開可能である。もちろん安全性を無視した処方や、治療法の無秩序な変更や、思いつきの

ような併用療法は決して行うべきではない。

### ま と め

口腔癌に対するTS-1を用いた治療戦略について文献的考察を含めてまとめ、また口腔癌治療におけるTS-1の有効性の解明を中心に臨床的あるいは基礎的研究から検討した。2001年4月からのTS-1の臨床導入より6年が経つが、いまだ口腔癌に対するTS-1療法の有効性・安全性については完全解明には至っていないものの、TS-1を含めた新規薬剤の開発により、確実に口腔癌治療は進歩しているようである。また口腔癌化学療法においてはTS-1の登場の後、何がbest partnerであるかという点で検討が行われようとしている。これらの治療は患者のQOLならびに現在の医療情勢を考慮して外来治療で行われる方向であるが、そのためには治療レジメが、

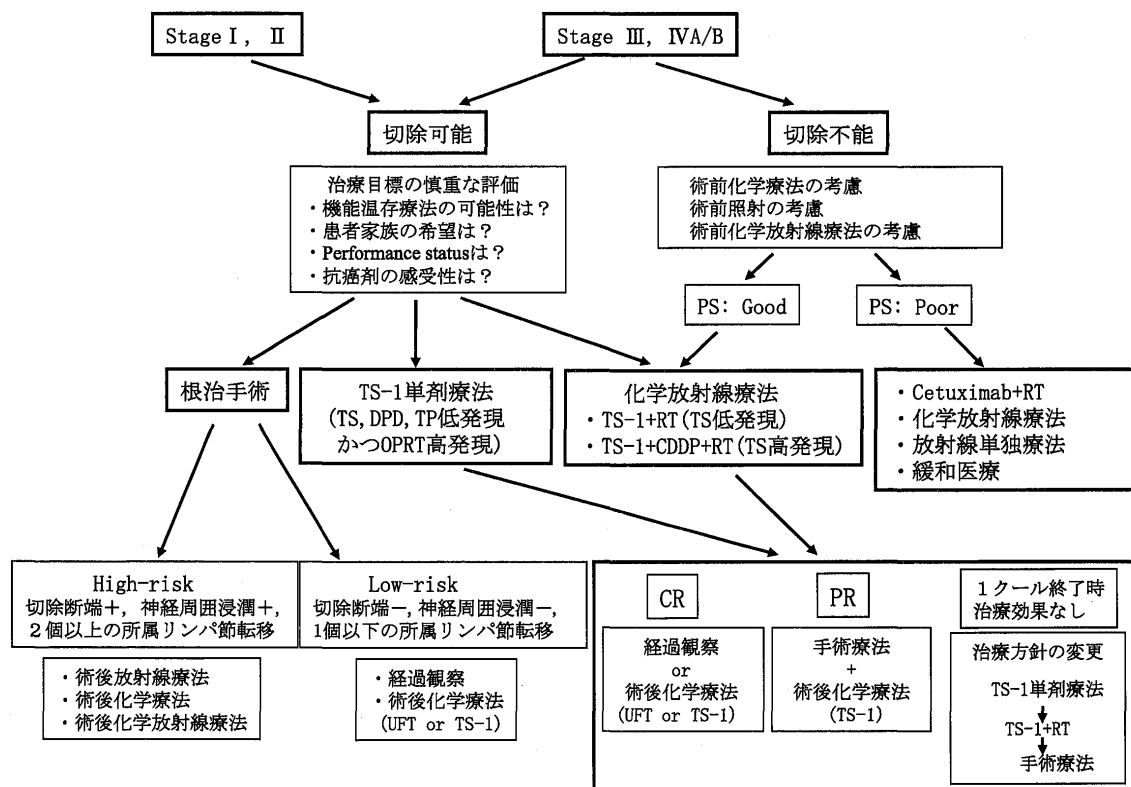


図6 TS-1を用いた口腔癌治療のアルゴリズム

報告論文のエビデンスおよび当科での治療経験に基づき考案した口腔癌治療のアルゴリズムである。Stage I, IIの場合は根治手術が第一選択とされるが、患者背景等によっては機能温存療法の選択も可能と考えられる。TS-1導入前では、術前化学療法によって口腔癌患者の生存率が向上することはないと結論付けられていたが、最近ではTS-1単剤、あるいはTS-1と低用量CDDP併用療法による術前化学療法の有効性が明らかにされつつある。また、Stage III, IV A/Bの切除不能例の場合でもperformance statusが良好であればTS-1を用いた化学放射線療法は有効な治療法と考えられる。なお2006年3月FDAは、局所的に進行した頭頸部扁平上皮癌に対する放射線との併用療法、あるいは白金系化学療法(CDDPなど)が奏効せず再発・転移をきたした頭頸部扁平上皮癌に対する単剤療法としてCetuximab(Erbitux)を認可したところである。現時点ではまだ本邦での承認はなされていないものの近い将来、Cetuximabと放射線の併用療法は進行口腔癌に対するsecond lineあるいはthird lineの治療法として大きく期待されている。

有害事象が少なく安全に施行でき、かつ有効性が証明されていることが前提となり、今後も更なる検討が続けられなければならないであろう。口腔癌も含めて消化器癌化学療法の key drug であり続けている TS-1 は、今後第Ⅲ相試験を通じて世界的標準治療のなかに組み込まれていくことが期待される。本邦は欧米に先駆けて TS-1 の開発を行ってきた経緯があり、今後もその発展に寄与すべく検討を重ねていく責務があると考えられる。まだまだ口腔癌に特有な特性の解明が山積みになされている感はないが、新しい口腔癌治療の一方方向性として、TS-1 を用いた治療戦略を検討した。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、本稿執筆の荣誉を賜りました四国歯学会会長坂東永一教授、編集委員長の吉本勝彦教授ならびに口腔腫瘍制御学分野佐藤光信前教授に感謝の意を表します。また数々の御指導、御協力を戴きました口腔腫瘍制御学分野の諸先生に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) 大島 明, 黒石哲夫, 田島和雄: がん・統計白書—罹患/死亡/予後—. 第1版. 東京, 篠原出版, (2004), 1-307
- 2) Goodman LS, Wintrobe MM, Dameshek W, Goodman MJ, Gilman A and McLennan MT: Nitrogen mustard therapy. Use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *JAMA* 251, 2255-2261 (1984)
- 3) Hata T, Hoshio T, Kanamori K, Matsumae A, Sano Y, Shima T and Sugawara R: Mitomycin, a new antibiotic from *Streptomyces*. I. *J Antibiot (Tokyo)* 9, 141-146 (1956)
- 4) Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, Mooren D, Griesbach L, Duschinsky R, Schnitzer RJ, Plevin E and Scheiner J: Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature* 179, 663-666 (1957)
- 5) Giller SA, Zhuk RA and Lidak MI: Analogs of pyrimidine nucleosides. I. N1-(alpha-furanidyl) derivatives of natural pyrimidine bases and their antimetabolites. *Dokl Akad Nauk SSSR* 176, 332-335 (1967)
- 6) Fujii S, Kitano S, Ikenaka K, Fukushima M, Nakamura H, Maehara Y and Shirasaka T: Effect of coadministration of thymine or thymidine on the antitumor activity of 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil and 5-fluorouracil. *Gann* 71, 100-106 (1980)
- 7) Shirasaka T, Shimamoto Y, Ohshimo H, Yamaguchi M, Kato T, Yonekura K and Fukushima M: Development of a novel form of an oral 5-fluorouracil derivative (S-1) directed to the potentiation of the tumor selective cytotoxicity of 5-fluorouracil by two biochemical modulators. *Anticancer Drugs* 7, 548-557 (1996)
- 8) Tatsumi K, Fukushima M, Shirasaka T and Fujii S: Inhibitory effects of pyrimidine, barbituric acid and pyridine derivatives on 5-fluorouracil degradation in rat liver extracts. *Jpn J Cancer Res* 78, 748-755 (1987)
- 9) Shirasaka T, Shimamoto Y and Fukushima M: Inhibition by oxonic acid of gastrointestinal toxicity of 5-fluorouracil without loss of its antitumor activity in rats. *Cancer Res* 53, 4004-4009 (1993)
- 10) Shirasaka T, Nakano K, Takechi T, Satake H, Uchida J, Fujioka A, Saito H, Okabe H, Oyama K, Takeda S, Unemi N and Fukushima M: Antitumor activity of 1 M tegafur-0.4 M 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine-1 M potassium oxonate (S-1) against human colon carcinoma orthotopically implanted into nude rats. *Cancer Res* 56, 2602-2606 (1996)
- 11) Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, Sugimachi K, Mitachi Y and Taguchi T: Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1 M tegafur-0.4 M gimestat-1 M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients. *Eur J Cancer* 34, 1715-1720 (1998)
- 12) Inuyama Y, Kida A, Tsukuda M, Kohno N, Satake B and S-1 Cooperative Study Group (Head and Neck Working Group): Early phase II study of S-1 in patients with advanced head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 25, 1151-1158 (1998)
- 13) Inuyama Y, Kida A, Tsukuda M, Kohno N, Satake B and S-1 Cooperative Study Group (Head and Neck Cancer Working Group): Late phase II study of S-1 in patients with advanced head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 28, 1381-1390 (2001)
- 14) Inuyama Y and Takeda C: A cooperative phase II study of cisplatin in patients with head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 13, 232-238 (1986)
- 15) Inuyama Y, Togawa K, Morita M, Takeoda S, Kaneko T, Takemiya S, Ono I, Nomura Y, Okuda M, Kikuchi K, Kida A, Sawaki S, Tsukuda M, Miyake H, Horiuchi M, Nozue M, Saito H, Sato T, Harada Y, Uemura T, Komiyama S, Soda T, Matsumura Y, Hirano M, Kimura K and Ogawa M: Phase II study of carboplatin in head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 15, 2131-2138 (1988)
- 16) Inuyama Y, Miyake H, Horiuchi M, Hayasaki K, Komiyama S and Ota K: An early phase II clinical study of cis-diammine glycolato platinum, 254-S, for head and neck cancers. *Gan To Kagaku Ryoho* 19, 863-869 (1992)

- 17) Inuyama Y, Miyake H, Horiuchi M, Hayasaki K, Komiyama S and Ota K: A late phase II clinical study of cis-diammine glycolato platinum, 254-S, for head and neck cancers. *Gan To Kagaku Ryoho* 19, 871-877 (1992)
- 18) Inuyama Y, Kataura A, Togawa K, Saijo S, Satake B, Takeoda S, Konno A, Ebihara S, Sasaki Y, Kida A, Kanzaki J, Ichikawa G, Kono N, Moriyama H, Kamata S, Miyake H, Sakai M, Horiuchi M, Kubota A, Tsukuda M, Matsuura H, Baba S, Saito H, Matsunaga T, Murakami Y, Yasuda N, Nakai Y, Yoshino K, Amatsu M, Yajin K, Komiyama S, Hirano M, Tomita K, Mogi G and Taguchi T: Late phase II clinical study of RP56976 (docetaxel) in patients with advanced/recurrent head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 26, 107-116 (1999)
- 19) Sato M, Harada K, Yoshida H, Yura Y, Azuma M, Iga H, Bando T, Kawamata H and Takegawa Y: Therapy for oral squamous cell carcinoma by tegafur and streptococcal agent OK-432 in combination with radiotherapy: association of the therapeutic effect with differentiation and apoptosis in the cancer cells. *Apoptosis* 2, 227-238 (1997)
- 20) Sato M and Harada K: Phase I study of concurrent radiotherapy with S-1 for oral squamous cell carcinoma. *Gan To Kagaku Ryoho* 33 Suppl 1, 179-183 (2006)
- 21) Skipper HE, Schable FM Jr and Wilcox WS: Experimental evaluation of potential anticancer agents. XIII. On the criteria and kinetic associated with "curability" of experimental leukemia. *Cancer Chemother Rep* 35, 1-111 (1964)
- 22) Spiegelman S, Sawyer R, Nayak R, Ritzi E, Stolb R and Martin D: Improving the anti-tumor activity of 5-fluorouracil by increasing its incorporation into RNA via metabolic modulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77, 4966-4970 (1980)
- 23) Parker WB and Cheng YC: Metabolism and mechanism of action of 5-fluorouracil. *Pharmacol Ther.* 48, 381-395 (1990)
- 24) Aschele C, Sobrero A, Faderan MA and Bertino JR: Novel mechanism(s) of resistance to 5-fluorouracil in human colon cancer (HCT-8) sublines following exposure to two different clinically relevant dose schedules. *Cancer Res* 52, 1855-1864 (1992)
- 25) Caballero GA, Ausman RK and Quebbeman EJ: Long-term, ambulatory, continuous iv infusion of 5-FU for the treatment of advanced adenocarcinomas. *Cancer Treat Rep* 69, 13-15 (1985)
- 26) Calabro-Jones PM, Byrd JE, Ward JF and Sharp TR: Time-dose relationships for 5-fluorouracil cytotoxicity against human epithelial cancer cells in vitro. *Cancer Res* 42, 4413-4420 (1982)
- 27) Pinedo HM and Peters GF: Fluorouracil; biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol* 6, 1653-1664 (1988)
- 28) Seifert P, Baker LH, Reed ML and Vaitkevicius VK: Comparison of continuously infused 5-fluorouracil with bolus injection in treatment of patients with colorectal adenocarcinoma. *Cancer* 36, 123-128 (1975)
- 29) Meta-analysis Group In Cancer: Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 16, 301-308 (1998)
- 30) Folkman J: The vascularization of tumors. *Sci Am* 234, 59-73 (1976)
- 31) Blood CH and Zetter BR: Tumor interactions with the vasculature; angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta* 1032, 89-118 (1990)
- 32) Harada K, Supriatno, Kawashima Y, Yoshida H and Sato M: S-1 Inhibits Tumorigenicity and Angiogenesis of Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cells by Suppressing Expression of Phosphorylated Akt, Vascular Endothelial Growth Factor and Fibroblast Growth Factor-2. *Int J Oncol* 30, 365-374 (2007)
- 33) Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS and Ferrara N: Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362, 841-844 (1993)
- 34) Hori A, Sasada R, Matsutani E, Naito K, Sakura Y, Fujita T and Kozai Y: Suppression of solid tumor growth by immunoneutralizing monoclonal antibody against human basic fibroblast growth factor. *Cancer Res* 51, 6180-6184 (1991)
- 35) Gately S and Kerbel R: Antiangiogenic scheduling of lower dose cancer chemotherapy. *Cancer J* 7, 427-436 (2001)
- 36) Browder T, Butterfield CE, Kraling BM, Shi B, Marshall B, O'Reilly MS and Folkman J: Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 60, 1878-1886 (2000)
- 37) Kerbel R and Folkman J: Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2, 727-739 (2002)
- 38) Kerbel RS: Inhibition of tumor angiogenesis as a strategy to circumvent acquired resistance to anti-cancer therapeutic agents. *Bioessays* 13, 31-36 (1991)
- 39) Jimenez B, Volpert OV, Crawford SE, Febbraio M, Silverstein RL and Bouck N: Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nat Med* 6, 41-48 (2000)
- 40) 原田耕志, 吉田秀夫, 佐藤光信: 口腔扁平上皮癌に対する TS-1 の Thrombospondin-1 (TSP-1) 発現増強を介した血管新生抑制効果. 頭頸部癌. 31,

- 487-492 (2005)
- 41) Lopez de Cicco R, Watson JC, Bassi DE, Litwin S and Klein-Szanto AJ : Simultaneous expression of furin and vascular endothelial growth factor in human oral tongue squamous cell carcinoma progression. *Clin Cancer Res* 10, 4480-4488 (2004)
- 42) Thornberry NA and Lazebnik Y: Caspases; enemies within. *Science* 281, 1312-1316 (1998)
- 43) Azuma M, Yamashita T, Aota K, Tamatani T and Sato M: 5-Fluorouracil suppression of NF-KappaB is mediated by the inhibition of IKappaB kinase activity in human salivary gland cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 282, 292-296 (2001)
- 44) Azuma M, Harada K, Supriatno, Tamatani T, Motegi K, Ashida Y and Sato M: Potentiation of induction of apoptosis by sequential treatment with cisplatin followed by 5-fluorouracil in human oral cancer cells. *Int J Oncol* 24, 1449-1455 (2004)
- 45) Shioi T, McMullen JR, Kang PM, Douglas PS, Obata T, Franke TF, Cantley LC and Izumo S: AKT/PKB promotes organ growth in transgenic mice. *Mol Cell Biol* 22, 2799-2809 (2002)
- 46) Kawakami Y, Nishimoto H, Kitaura J, Maeda-Yamamoto M, Kato RM, Littman DR, Rawlings DJ and Kawakami T: Protein kinase C betaII regulates Akt phosphorylation on Ser-473 in a cell type- and stimulus-specific fashion. *J Biol Chem* 279, 47720-47725 (2004)
- 47) Kennedy SG, Kandel ES, Cross TK and Hay N: Akt/Protein kinase B inhibits cell death by preventing the release of cytochrome c from mitochondria. *Mol Cell Biol* 19, 5800-5810 (1999)
- 48) Harada K, Kawaguchi S, Supriatno, Kawashima Y, Yoshida H and Sato M: S-1, an oral fluoropyrimidine anti-cancer agent, enhanced radiosensitivity in a human oral cancer cell line in vivo and in vitro; involvement possibility of inhibition of survival signal, Akt/PKB. *Cancer Lett* 226, 161-168 (2005)
- 49) Smalley SR, Kimler BF and Evans RG: 5-Fluorouracil modulation of radiosensitivity in cultured human carcinoma cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 20, 207-211 (1991)
- 50) Nakajima Y, Miyamoto T, Tanabe M, Watanabe I and Terasima T: Enhancement of mammalian cell killing by 5-fluorouracil in combination with X-rays. *Cancer Res* 39, 3763-3767 (1979)
- 51) Berry RJ: Effects of some metabolic inhibitors on x-ray dose-response curves for the survival of mammalian cells in vitro, and on early recovery between fractionated x-ray doses. *Br J Radiol* 39, 458-63 (1966)
- 52) Lo TC, Wiley AL Jr, Anseld FJ, Brandenburg JH, Davis HL Jr, Gollin FF, Johnson RO, Ramirez G and Vermund H: Combined radiation therapy and 5-fluorouracil for advanced squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: a randomized study. *Am J Roentgenol* 126, 229-235 (1976)
- 53) Matsubara S: Fundamental remarks on combination radiotherapy with anti-neoplastic agents. *Jpn J Cancer Clin* 45, 271-273 (1999)
- 54) Harada K, Kawaguchi S, Supriatno, Onoue T, Yoshida H and Sato M: Combined effects of the oral fluoropyrimidine anticancer agent, S-1 and radiation on human oral cancer cells. *Oral Oncol* 40, 713-719 (2004)
- 55) Harada K, Kawaguchi S, Supriatno, Onoue T, Yoshida H and Sato M: Enhancement of apoptosis in salivary gland cancer cells by the combination of oral fluoropyrimidine anticancer agent (S-1) and radiation. *Int J Oncol* 25, 905-911 (2004)
- 56) Peters GJ, van der Wilt CL, van Triest B, Codacci-Pisanelli G, Johnston PG, van Groeningen CJ and Pinedo HM: Thymidylate synthase and drug resistance. *Eur J Cancer* 31A, 1299-1305 (1995)
- 57) Spears CP, Shahinian AH, Moran RG, Heidelberger C and Corbett TH: In vivo kinetics of thymidylate synthetase inhibition of 5-fluorouracil-sensitive and -resistant murine colon adenocarcinomas. *Cancer Res* 42, 450-456 (1982)
- 58) Peters GJ, van der Wilt CL, van Groeningen CJ, Smid K, Meijer S and Pinedo HM: Thymidylate synthase inhibition after administration of fluorouracil with or without leucovorin in colon cancer patients: implications for treatment with fluorouracil. *J Clin Oncol* 12, 2035-2042 (1994)
- 59) Johnston PG, Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Allegra CJ, Danenberg PV and Leichman L: Thymidylate synthase gene and protein expression correlate and are associated with response to 5-fluorouracil in human colorectal and gastric tumors. *Cancer Res* 55, 1407-1412 (1995)
- 60) Johnston PG, Fisher ER, Rockette HE, Fisher B, Wolmark N, Drake JC, Chabner BA and Allegra CJ: The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 12, 2640-2647 (1994)
- 61) Yamachika T, Nakanishi H, Inada K, Tsukamoto T, Kato T, Fukushima M, Inoue M and Tatematsu M: A new prognostic factor for colorectal carcinoma, thymidylate synthase, and its therapeutic significance. *Cancer* 82, 70-77 (1998)
- 62) Pestalozzi BC, Peterson HF, Gelber RD, Goldhirsch A, Gusterson BA, Trihia H, Lindtner J, Cortes-Funes

- H, Simmoncini E, Byrne MJ, Golouh R, Rudenstam CM, Castiglione-Gertsch M, Allegra CJ and Johnston PG: Prognostic importance of thymidylate synthase expression in early breast cancer. *J Clin Oncol* 15, 1923-1931 (1997)
- 63) Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Groshen S, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Garcia Y, Li J and Leichman L: Thymidylate Synthase mRNA Level in Adenocarcinoma of the stomach; A Predictor for Primary Tumor Response and Overall Survival. *J Clin Oncol* 14, 174-182 (1996)
- 64) Johnston PG, Fisher ER, Rockette HE, Fisher B, Wolmark N, Drake JC, Chabner BA and Allegra CJ: The Role of Thymidylate Synthase Expression in Prognosis and Outcome of With Rectal Cancer. *J Clin Oncol* 12, 2640-2647 (1994)
- 65) Beck A, Etienne MC, Cheradame S, Fischel JL, Formento P, Renee N and Milano G: A Role for Dihydropyrimidine Dehydrogenase and Thymidylate Synthase in Tumour Sensitivity to Fluorouracil. *Eur J Cancer* 30, 1517-1633 (1994)
- 66) Etienne MC, Cheradame S, Fischel JL, Formento P, Dassonville O, Renee N, Schneider M, Thyss A, Demard F and Milano G: Response to Fluorouracil Therapy in Cancer Patients; The Role of Tumoral Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity. *J Clin Oncol* 13, 1663-1670 (1995)
- 67) Maehara Y, Moriguchi S, Emi Y, Watanabe A, Kohnoe S, Tsujitani S and Sugimachi K: Comparison of pyrimidine nucleotide synthetic enzymes involved in 5-fluorouracil metabolism between human adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Cancer* 66, 156-161 (1990)
- 68) Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Volkenandt M, Shea LC, Aigner K, Gustavsson B, Leichman L, Frosing R, Ray M, Gibson NW, Spears CP and Danenberg PV: Quantitation of thymidylate synthase, dihydrofolate reductase, and DT-diaphorase gene expression in human tumors using the polymerase chain reaction. *Cancer Res* 52, 108-116 (1992)
- 69) Harada K, Kawashima Y, Yoshida H and Sato M: Thymidylate synthase expression in oral squamous cell carcinoma predicts response to S-1. *Oncol Rep* 15, 1417-1423 (2006)
- 70) Fujii M: Combination therapy with S-1 and CDDP for head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 33 Suppl 1, 150-154 (2006)
- 71) Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H: Combination chemotherapy with S-1 and carboplatin for head and neck cancers. *Gan To Kagaku Ryoho* 33 Suppl 1, 155-159 (2006)
- 72) Ito H, Yoshida T, Tokashiki R, Shimizu A, Hiramatsu H, Tsukahara K, Funato N: A combination study of S-1 and docetaxel in patients with head and neck cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 33 Suppl 1, 160-162 (2006)
- 73) Tahara M: Concurrent chemoradiotherapy (CRT) with S-1 and cisplatin (CDDP) in patients (pts) with locally advanced head and neck cancer (HNC) *Gan To Kagaku Ryoho* 33 Suppl 1, 167-171 (2006)